



LOS LIBERTADORES
FUNDACIÓN UNIVERSITARIA

**PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL, A PARTIR DE LA
BIOMASA HIDROLIZADA DE LA EICHHORNIA CRASSIPES CON
LA LEVADURA (SACCHAROMYCES CEREVISIAE)**

ANDRES LEONARDO JIMENEZ FONSECA

FUNDACIÓN UNIVERSITARIA LOS LIBERTADORES.

FACULTAD DE INGENIERÍA.

INGENIERIA INDUSTRIAL

BOGOTA

2018



LOS LIBERTADORES
FUNDACIÓN UNIVERSITARIA

**PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL, A PARTIR DE LA
BIOMASA HIDROLIZADA DE LA EICHHORNIA CRASSIPES CON
LA LEVADURA (SACCHAROMYCES CEREVISIAE)**

ANDRES LEONARDO JIMENEZ FONSECA

TRABAJO DE INVESTIGACION

DIRECTOR

ADOLFO LEON AGATON

MSc en Ingeniería Industrial

FUNDACION UNIVERSITARIA LOS LIBERTADORES

FUNDACIÓN UNIVERSITARIA LOS LIBERTADORES.

FACULTAD DE INGENIERÍA.

INGENIERIA INDUSTRIAL

BOGOTA

2018



CONTENIDO

RESUMEN	5
INTRODUCCION	6
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
2. JUSTIFICACION.....	9
3. OBJETIVOS	11
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	11
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	11
4. MARCO TEORICO	12
4.1 ETANOL.....	12
4.2 BIOETANOL.....	12
4.2.1 EL BIOETANOL COMO COMBUSTIBLE ALTERNATIVO	14
4.3 EICHHORNIA CRASSIPES	15
4.4 SACCHAROMYSES CEREVISIAE	16
4.5 METODOS Y PROCEDIMIENTOS	17
4.5.1 HIDROLISIS.....	17
4.5.1.2 HIDROLISIS ALCALINA.....	17
4.5.1.2 HIDROLISIS ACIDA.....	17
4.5.1.3 FERMENTACION ALCOHOLICA	18
5. MATERIALES Y METODOLOGIA	18
5.1 MATERIALES	18
5.2 METODOLOGIA.....	19
5.2.1 RECOLECCION.....	19
5.2.2 SECADO - TRITURADO Y TAMIZADO.....	20
5.2.2.1 SECADO	20
5.2.2.2 TRITURADO Y TAMIZADO.....	22
5.3 HIDROLISIS.....	23



5.3.1 HIDROLISIS ALCALINA.....	23
5.3.2 HIDROLISIS ACIDA.....	26
5.4 FERMENTACION	28
6. ANALISIS Y RESULTADOS	31
6.1 MODELAMIENTO DE LOS DATOS EN EXCEL	32
7. CONCLUSIONES	33
BIBLIOGRAFIA.....	35



RESUMEN

La biomasa de la planta *Eichhornia Crassipes* se presenta como un material óptimo para la obtención de bioetanol gracias a su contenido de hemicelulosa, este se obtiene gracias a la acción de microorganismos fermentadores sobre los carbohidratos presentes en la planta, llevándose a cabo un proceso de fermentación alcohólica.

Para la producción de bioetanol se llevaron a cabo los procesos químicos de hidrólisis alcalina e hidrólisis ácida previa a la fermentación con inóculo fermentador *Saccharomyces cerevisiae* más conocido como levadura de cerveza, se realizaron los montajes correspondientes para el desarrollo de cada uno de los procesos y se tomaron muestras de forma experimental en los laboratorios de la Fundación Universitaria Los Libertadores.



INTRODUCCION

Las fuentes de combustión fósiles tales como el petróleo, carbón y el gas natural generan grandes cantidades de emisiones de gases efecto invernadero que han llevado al calentamiento global y a la contaminación ambiental en general, al ver reducidos estos recursos como fuentes no renovables de energía y observando los impactos que generan estas fuentes de combustión se ha tenido la necesidad de buscar y generar fuentes de energía alternativas que permitan satisfacer la demanda energética pero que sean renovables y amigables con el medio ambiente (SALAET FERNÁNDEZ, 2010).

La bioenergía aparece como un tipo de energía renovable que se da a partir del aprovechamiento de la materia orgánica generada mediante algún proceso biológico o mecánico en el cual sirve como sustratos y por lo general son tomados de alguna sustancia perteneciente a los seres vivos, sus restos o sus desechos (Dominguez, N. A., & Hatuey, F. I.)

Una de las principales fuentes de bioenergía es la biomasa, dentro de las cuales se destaca la lignocelulosa que es el principal componente de la pared celular de las plantas, esta biomasa producida por la fotosíntesis es la fuente de carbono renovable más prometedora para solucionar los problemas actuales de energía, puede ser utilizada para la generación de bioetanol que a su vez este puede ser utilizado como combustible en los diferentes procesos industriales (Cuervo, 2009) Para la producción de etanol a partir del elemento lignoceluloso, se llevan a cabo diferentes procesos químicos, físicos y biológicos dentro de los cuales se encuentran: la remoción de lignina, hidrólisis y fermentación, entre otros. (Vázquez & Dacosta, 2007)

En la actualidad, el bioetanol es producido por la fermentación alcohólica de los azúcares presentes en materiales renovables. Dicha fermentación está influenciada por factores como la concentración de azúcares del sustrato y el microorganismo fermentador que se emplee (PEÑA & ARANGO, 2009)

La *Eichhornia Crassipes* más conocida como Lirio acuático, o buchón de agua es una planta invasiva de producción desmedida que ha llegado a causar grandes problemas en el ecosistema acuático pero que resulta benéfica ya que su biomasa seca puede utilizarse para la generación de biocombustibles gracias a su contenido importante de Hemicelulosa (Atehortua & Gartner, 2013)



Varios estudios sugieren al Jacinto de agua o buchón de agua como una materia prima para la producción de bioetanol gracias al aprovechamiento de los biopolímeros de azúcares. Teniendo concentración en mayor porcentaje de hemicelulosa seguido de celulosa y lignina. Además la combinación de pre tratamiento alcalino/oxidativo se plantea como el procedimiento óptimo para la hidrólisis enzimática de biomasa para esta planta (Vargas, Fajardo, & Andrade, 2013)

La composición de la biomasa de Jacinto de agua es aproximadamente de 48% de hemicelulosa, 18% celulosa y 3,5% de lignina, el uso de la Eichhornia para su transformación en etanol presenta desventajas principales en cuanto a la recolección si no se cuentan con los equipos necesarios y los costos involucrados para la adopción de métodos y disposición para su pre tratamiento, desintoxicación, sacarificación y fermentación (Ríos, 2015)

La obtención de la Eichhornia Crassipes se facilita debido a su producción indiscriminada en los humedales y diferentes ecosistemas fluviales de Colombia, su presencia dificulta procesos de pesca y flujo de transporte en ocasiones, por tan motivo debe ser removido constantemente. Sin embargo este vuelve a nacer por esto se asegura como fuente bioenergética.

El diseño y montaje del desarrollo experimental de esta investigación se ha basado en el modelo planteado por (Saprativ, 2016) el cual aporta los parámetros necesarios para el diseño y de (Cuchimaque, 2018) para el montaje y ejecución del proceso de fermentación en batch para la producción de bioetanol.

En la presente investigación se modelaron y ajustaron los parámetros de un sistema de producción de bioetanol con la biomasa de la Eichhornia Crassipes. Estos parámetros se ajustaron de acuerdo al tiempo disponible en los laboratorios de la Fundación Universitaria Los Libertadores, la cantidad de biomasa hidrolizada y *Saccharomyces* a utilizar.



1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los combustibles fósiles han sido la base del sistema energético mundial durante mucho tiempo, siendo el petróleo, el carbón y el gas natural los principales recursos que permiten suplir la demanda energética a nivel mundial, la explotación intensiva de estos recursos no renovables ha generado el agotamiento de tales recursos a niveles impensados, por tal motivo se ha tenido la necesidad de desarrollar fuentes de energía alternas que sean amigables con el medio ambiente y de carácter renovables. Actualmente dentro de las fuentes de energías alternas se encuentran la energía solar, la energía eólica, la biomasa, entre otras, las cuales para desarrollarse e implementarse de manera gradual necesitan de un desarrollo tecnológico que sea confiable, apoyado en reformas políticas y respaldo económico. (Posso, 2002)

El bioetanol se sitúa como uno de los principales biocombustibles llamado a ser un protagonista fundamental en el nuevo sistema energético sostenible que se desea desarrollar actualmente y hacia un futuro, ya que ofrece ventajas económicas y amigables con el medio ambiente siendo más económico que el petróleo y menos contaminante que este, además de ser una fuente renovable de energía.

La materia orgánica de origen vegetal o animal susceptible de ser aprovechada energéticamente llamada biomasa es la que permite la elaboración de dichos biocombustibles mediante un proceso de fermentación de azúcares para así obtener bioetanol aunque este también se puede obtener suministrando como sustratos subproductos de procesos industriales para la producción de azúcar. Así la biomasa se sitúa como una excelente alternativa energética ya que permite obtener a través de ella gran cantidad de productos entre los cuales se encuentra el bioetanol, además de que se adapta y suple perfectamente en todos los campos a los combustibles fósiles usados tradicionalmente. (Fernández, 2003)



2. JUSTIFICACION

La energía se muestra como un recurso trascendental en la determinación de la calidad de vida de la población, así como un insumo fundamental en los diferentes procesos productivos y cadenas de abastecimiento, las fuentes energéticas que se han venido utilizando hasta el día de hoy son de carácter no renovable y se han ido agotando poco a poco debido a su explotación agresiva, con el paso del tiempo se ha evidenciado como por el uso intensivo de dichas fuentes energéticas y por los impactos generados en su producción se ha deteriorado el medio ambiente y con ello la calidad de vida poblacional se ha visto afectada significativamente (CEPAL, 2003) Por tal motivo se ha generado la necesidad de carácter prioritario de desarrollar fuentes de energía alternas que sean más amigables con el medio ambiente, renovables y sustentables, las cuales deben ir de la mano con políticas gubernamentales y desarrollo tecnológico.

Los biocombustibles aparecen como alternativas más que atractiva para suplir la demanda energética para la industria automotriz y la producción de electricidad a nivel mundial, ya que se obtienen a partir de la biomasa de la materia orgánica animal y vegetal, siendo estos un recurso renovable y amigable con el medio ambiente reduciendo la contaminación en el mismo y capaz de suplir en forma parcial o en su totalidad a los combustibles de origen fósil usados actualmente que se agotan progresivamente y no son renovables (Aburto, Martínez, & Murrieta, 2008). A parte muestran grandes ventajas sobre los combustibles obtenidos a través de los derivados del petróleo tales como: disminución en los precios de los combustibles, generación de empleo interna en el desarrollo y producción, pilar en los sistemas económicos nacionales.

En Colombia se encuentran en abundancia recursos naturales capaces de satisfacer óptima y eficientemente las necesidades de desarrollo y crecimiento del país, la producción de pastos y forrajes usada principalmente en la industria ganadera presentan gran potencial para la producción de biocombustibles gracias a su contenido de lignocelulosa, siendo consideradas estas especies como las más adecuadas para la elaboración de bioetanol (Cardona, Rios, & Peña, 2012). Otro recurso que se encuentra en abundancia es Eichhornia Crassipes o buchón de agua, esta planta invasiva se remueve constantemente de los humedales ya que cubren los espejos de agua y afectan el ecosistema. En el año 2017 fueron removidos cerca de 20 toneladas de dicha planta en el humedal Juan Amarillo de Bogotá las cuales fueron utilizadas en procesos de compostaje para la producción de abono orgánico (espectador, 2016). Claramente se habrían podido utilizar estas



toneladas de biomasa para la producción de bioetanol lo cual nos muestra como no se están aprovechando eficientemente los recursos, quizás por falta de conocimiento acerca de la generación de fuentes de energía alternas o por escases de desarrollo investigativo o infraestructura para el procesamiento de los biocombustibles.

El buchón de agua o *Eichhornia Crassipes* posee las características necesarias para la elaboración de bioetanol ya que al ser una planta invasiva en ecosistemas acuáticos se genera permanentemente situándose como un recurso renovable, además contiene altos niveles de celulosa y bajos porcentajes de lignina y hemicelulosa, que facilitan el proceso de fermentación para la obtención del bioetanol. (Meléndez, Mestizo, & Vega, 2017)

Para la obtención de bioetanol se ha diseñado un sistema de fermentación piloto en el cual de forma secuencial se evidencian los procesos de hidrolisis y fermentación batch en el cual se controlaron todas y cada una de las condiciones inmersas en el procedimiento, teniendo como sustrato la biomasa de la *Eichhornia Crassipes* y se obtendrá el bioetanol a partir de la *Saccharomyces cerevisiae* según el modelo planteado en (Cuchimaque , 2018)

Por tal motivo se ha desarrollado en la Fundación Universitaria Los Libertadores un modelo de producción de bioetanol a partir de la biomasa hidrolizada de la *Eichhornia Crassipes* o buchón de agua mediante un sistema piloto de fermentación en batch, como desarrollo investigativo acerca de la generación y producción de energías alternas sustentables y renovables en Colombia.



3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Producir bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de la biomasa de la *Eichhornia Crassipes* mediante un sistema piloto de fermentación en Batch en la Fundación Universitaria Los Libertadores.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

3.2.1 Analizar el comportamiento de la *Eichhornia crassipes* como sustrato dentro del proceso de fermentación para la obtención de bioetanol.

3.2.2. Verificar la eficiencia de uso de la *Saccharomyces Cerevisiae* como agente fermentador dentro del proceso de producción de bioetanol.

3.2.3. Identificar y controlar las diferentes condiciones necesarias para la producción eficiente de bioetanol dentro del sistema piloto elaborado.

4. MARCO TEORICO

4.1 ETANOL

¿Qué es el etanol?

El alcohol etílico o etanol es un producto químico orgánico sintético, se presenta como un líquido incoloro, de fuerte olor e inflamable, presenta un punto de ebullición de 78 °C, su fórmula química es $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$, y se comporta como el componente fundamental en las bebidas alcohólicas, este se obtiene por destilación de productos de fermentación de sustancias azucaradas o feculentas como frutas entre otras [18].

4.2 BIOETANOL

Se denomina bioetanol a todo aquel que es obtenido de la biomasa vegetal, miles y jugos con un contenido alto en sacarosa de fibras azucaradas, productos ricos en almidón y a partir de materiales lignocelulosos.

Cualquier material que contenga azúcares o hidratos de carbono fermentable, celulosa o hemicelulosa, pueden servir como materia prima para la obtención del etanol [19].

Ficha técnica Bioetanol

FICHA TÉCNICA	
Fórmula	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$
Características Generales	Etanol facturado a partir de fuentes biológicas tales como la fermentación de la <i>E. Crassipes</i>
Sinónimos	Alcohol deshidrato, hidrato de etilo.
Características Físico/Químicas	
Aspecto:	Líquido claro e incoloro



Olor:	Característico
Punto de Fusión	-117° C
Solubilidad	Miscible
Temperatura de Inflamación	13°
Punto de Ebullición	79° C
Temperatura de Auto ignición	363°C
Precauciones	
Material Flamable	Manténgase Alejado del calor, chispas, flamable abierta, o fuentes de ignición.
otras Precauciones:	Evite el contacto con ojos y piel. Evite la inhalación de los vapores
contacto con Ojos:	se presenta irritación solo en concentraciones ambientales mayores a 5000 o 10000 PPM
contacto con la piel:	El líquido puede afectar la piel, produciendo dermatitis caracterizada por resequedad y agrietamiento.
Estabilidad:	Estable en condiciones normales
Condiciones a evitar:	Calor, Chispas y flama abierta
Riesgos de Fuego y Explosión:	Por ser un producto inflamable, los vapores pueden llegar a un punto de ignición, prenderse y transportar el fuego hacia el material que los origino. Los vapores pueden explotar si se prenden en un área cerrada y pueden generar mezclas explosivas e inflamables con el aire a temperatura ambiente.

	Los productos de descomposición son monóxido y dióxido de carbono.
Reactividad:	Los materiales oxidantes pueden ocasionar reacciones vigorosas al contacto con el producto.

Fuente:química.unam.(2016)<https://quimica.unam.mx/wp-content/uploads/2016/12/12etanol.pdf>

4.2.1 EI BIOETANOL COMO COMBUSTIBLE ALTERNATIVO

Los combustibles generados a partir de la biomasa vegetal son conocidos como agro - combustibles o biocombustibles, estos se han implementado recientemente para suplir a los combustibles generados por los derivados del petróleo debido a sus costos elevados y a la contaminación generada por el dióxido de carbono. Uno de los principales elementos para la elaboración de bioetanol en Colombia en la caña panelera en la cual el país se posiciona en segundo lugar a nivel mundial en la producción panelera y en el primero a nivel de consumo. Este insumo y la mayoría de materias primas usadas en la elaboración de biocombustibles son usados en la industria alimenticia por lo cual su obtención se genera masivamente y de manera continua [20].sin embargo no solo la caña panelera se usa como sustrato para la obtención de bioetanol, gran variedad de plantas y vegetales tienen óptimas condiciones y características para ser usados en el proceso de fermentación alcohólica para así poder producirlo entre estas plantas encontramos la Eichhornia crassipes.

4.3 EICHHORNIA CRASSIPES

La Eichhornia Crassipes o lirio acuático es una planta libre flotadora miembro de la familia de las Pontederiaceae, que ocupa un lugar sobresaliente entre las comunidades de hidrófitas de agua dulce de las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Debido a su rápido crecimiento es considerado maleza ya que perturba hábitats florales y acuáticos y genera inconvenientes fluviales, y el impedimento de luz al fondo de los ecosistemas acuáticos, entre otros inconvenientes [21]. Originaria de Brasil, se encuentra en aguas con pH de 4 a 10 y adquiere el rango de infestación masiva entre 6.2 y 7.8. Su reproducción puede ser sexual o asexual, siendo esta última la más frecuente en la especie y con la que puede duplicarse la población, en condiciones óptimas, de 5 a 15 días.

En los últimos años ha surgido la producción de bioetanol a partir de biomasa lignocelulosa de esta planta (compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina, que se encuentran en la pared celular) [22].

Según una investigación realizada por [23] para la caracterización del Jacinto de agua, se tomó una muestra del Jacinto y se secó naturalmente para luego llevarla al laboratorio. Por medio del protocolo USP- 731- (USP Compendial Methods), el porcentaje de humedad de la planta; de este modo se pesó una cantidad de 0.01 kg del Jacinto de agua y se llevó a un horno a 103°C por un tiempo de 12 horas. Luego de esto se retiraron las muestras del horno y se dejaron en reposo por un tiempo de 4 horas a temperatura ambiente. La diferencia entre el peso fresco y el peso seco, 8 correspondió a la cantidad de agua presente en las muestras (% humedad). En el laboratorio se determinaron los porcentajes de carbono, nitrógeno, lignina, celulosas y hemicelulosa del Jacinto de agua [24].

Tabla 1. Caracterización de los componentes químicos del Jacinto de agua

MATERIAL	JACINTO DE AGUA
PARAMETRO	RESULTADO
C (C orgánico total)	33,70%
N (nitrógeno – espectrometría)	1,97%

Relación C:N	17,1
Porcentaje humedad (n= 10; desv Estándar = 0,002)	1,30%
Lignina	6,98%
Celulosa	34,80%
Hemicelulosa	34,30%
Materia Orgánica	71,60%
Fosforo	0.25%

Fuente. Alomia, A. 2011

4.4 SACCHAROMYSES CEREVISIAE

La *Saccharomyces Cerevisiae* es una levadura cuya colonia es color crema o blanco, de apariencia húmeda y brillante. Posee una temperatura óptima de crecimiento de 25 a 30°C, su nombre significa azúcar de hongos, también es conocida popularmente como levadura de cerveza, sirve como fuente de enzimas, extracto autolisado para sustituir sabores naturales [25] y es la especie de levadura más utilizada para la obtención de etanol a nivel industrial ya que se presenta como un microorganismo de fácil manipulación y recuperación, no es exigente en cuanto a su cultivo y no es costosa, también, tolera grandes concentraciones de etanol, en la fermentación produce bajos niveles de subproductos y capaz de usar altas concentraciones de azúcar, presenta alta viabilidad celular para el reciclado y características de floculación y sedimentación para el procesamiento posterior [26].



4.5 METODOS Y PROCEDIMIENTOS

4.5.1 HIDROLISIS

La lignocelulosa presente en la pared de la biomasa presenta una estructura compleja, está compuesta por hemicelulosa, celulosa y lignina, las cuales deben ser procesadas. La celulosa presenta un porcentaje mayor de contenido y su estructura molecular es cristalina lo cual dificulta su conversión a azúcares que se puedan fermentar. Por otra parte la hemicelulosa se puede hidrolizar con facilidad, pero, la xilosa, carbohidrato presente en la hemicelulosa es difícil de fermentar a alcohol. Y finalmente la lignina al ser un polímero rígido no puede convertirse en etanol. (Reese, 1995).

4.5.1.2 HIDROLISIS ALCALINA

Antes de que la biomasa pueda ser convertida en gas, se debe retirar la lignocelulosa que recubre la pared de la planta, para este proceso se pueden utilizar varios solventes, uno de estos es el hidróxido de sodio (NaOH), por lo general se utilizan proporciones a una concentración que varía entre 0 y 5% para poder remover la lignina que cubre la celulosa y la hemicelulosa, para la cantidad de Jacinto de agua, a 45°C durante un tiempo de 24 horas y agitación constante. (Meléndez, Mestizo, & Vega, 2017)

4.5.1.2 HIDROLISIS ACIDA

El pre tratamiento de la biomasa lignocelulosa con ácidos, ya sean estos concentrados o diluidos busca solubilizar la hemicelulosa y hacer más accesible la celulosa. En este procedimiento se hidroliza la xilosa de la biomasa produciendo monómeros para así permitir la fermentación de azúcares. Si se desea producir etanol es aconsejable el uso de ácidos diluidos, ya que las reacciones secundarias del proceso pueden ser eliminadas con este tratamiento. Se usan concentraciones entre el 1 y el 7%. (Loja Sánchez, 2016)



4.5.1.3 FERMENTACION ALCOHOLICA

La fermentación es un proceso en el cual por acción de levaduras o bacterias, se degradan los sustratos ya sea de forma aeróbica o anaeróbica mediante la producción de enzimas por parte de los agentes fermentadores. (Lehninger, 1981).

La fermentación alcohólica permite degradar los azúcares en alcohol y dióxido de carbono mediante la reacción química $C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$.

La *Saccharomyces Cerevisiae* es el agente fermentador más utilizado aunque existen otros según estudios que también tienen un comportamiento óptimo para la producción de alcohol. (Garzón & Hernández, 2009).

5. MATERIALES Y METODOLOGIA

5.1 MATERIALES

- 2 frascos de vidrio capacidad de 4 litros y sus tapas
- *Saccharomyces Cerevisiae*.
- *Eichhornia Crassipes*.
- 1 Balanza de precisión.
- 1 Alcohómetro de inmersión.
- Glucómetro.
- Tiras de Glucosa.
- Potenciómetro
- Ph- metro
- Filtro
- NaOH
- H_2SO_4
- 1 Bureta con bomba
- 1 Motor de pecera
- 1 Bomba perostática
- 2 Stirbar (barra de agitación) 51.16mm
- 2 Probetas de 250ml.
- Frascos para muestreo de 100ml.
- 2 biorreactores

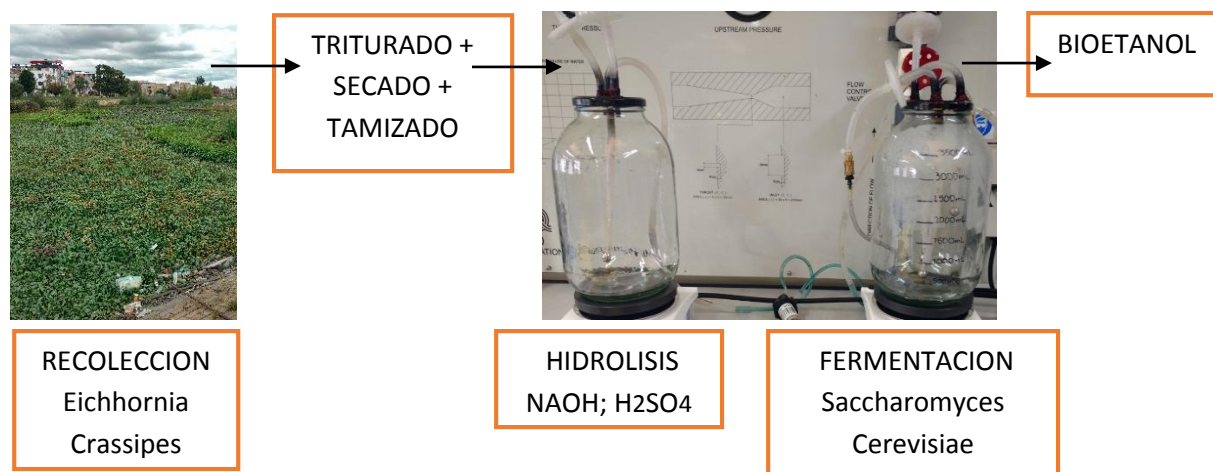


Figura 1. Flujograma del proceso de producción de bioetanol a partir de la biomasa hidrolizada de la *Eichhornia Crassipes* en el sistema piloto de fermentación desarrollado por (Cuchimaque , 2018) en la Fundación Universitaria Los Libertadores.

5.2 METODOLOGIA

5.2.1 RECOLECCION

La *Eichhornia Crassipes* utilizada como sustrato para el desarrollo de esta investigación se recolectó en el mes de Junio del año 2018 en el humedal el Jaboque ubicado en la localidad de Engativá en el noroccidente de la ciudad de Bogotá.

Para la recolección se utilizó un lazo de 5 m de longitud con el cual mediante suspensión se alcanzó el nivel del agua y se pudo arrancar de forma manual la cantidad de *Eichhornia Crassipes* utilizada en la investigación.



Imagen1. Humedal el Jaboque, Engativá, Bogotá D.C. Fuente propia.

5.2.2 SECADO - TRITURADO Y TAMIZADO

5.2.2.1 SECADO

Luego de recolectar la cantidad de *Eichhornia Crassipes* utilizada como sustrato para el proceso de producción de bioetanol se llevó a una bodega ubicada en el barrio Santa Helenita en la localidad de Engativá en la ciudad de Bogotá, y se colocó sobre una superficie donde se inició la primera fase el proceso de secado mediante luz natural durante un tiempo de 45 días como se puede ver en el imagen 2.



Imagen 2. Fase 1 de secado de la Eichhornia Crassipes mediante luz natural.
Fuente propia.

Transcurridos los 45 días, se tomó la muestra de Eichhornia Crassipes y se puso a secar en un horno de crisol a una temperatura de 100 °C durante un tiempo que vario entre los 25 a 30 minutos dando así cumplimiento a la fase 2 del secado de la muestra. Ver imágenes 2 y 3.



Imagen2. Horno de crisol



Imagen 3. Eichhornia Crassipes seca



5.2.2.2 TRITURADO Y TAMIZADO

Completadas las fases 1 y 2 de secado de la *Eichhornia Crassipes*, se inicia el proceso de triturado y tamizado para la reducción granulométrica de la muestra, los cuales se realizaron mediante la utilización de un molino tradicional para grano el cual se muestra en la imagen 4.



Imagen 4. Molino tradicional para grano utilizado en la trituración de la *Eichhornia Crassipes*. Fuente propia.

En el proceso la muestra de *Eichhornia Crassipes* se introduce en el molino en proporciones mínimas por la parte superior del mismo y se va moliendo gradualmente hasta que la muestra es triturada en su totalidad. El proceso se visualiza en la imagen 5.



Imagen 5. Proceso de triturado de la *Eichhornia Crassipes*.



Al finalizar el proceso de reducción granulométrica mediante el triturado de la Eichhornia Crassipes en el molino se puede observar en la **imagen 6** como el tamaño del grano es sumamente fino por lo cual no es necesario tamizarlo en una malla # 8.



Imagen 6. Reducción granulométrica de la Eichhornia Crassipes. Fuente propia

Finalizados los procesos de secado y triturado y tamizado de la Eichhornia Crassipes se lleva la muestra a la Fundación Universitaria los Libertadores para iniciar el proceso de hidrolisis en los laboratorios.

5.3 HIDROLISIS

5.3.1 HIDROLISIS ALCALINA

El diseño del proceso de producción de bioetanol modelado por (Cuchimaque , 2018)], consta de 2 birreactores: uno para llevar a cabo el proceso de hidrolizado y el otro para la fermentación de la biomasa hidrolizada.

En el proceso de hidrolizado alcalino se utilizara un birreactor en vidrio que cuenta con una capacidad de 5 L, se realizara de forma aeróbica sin la utilización de la tapa para el desprendimiento de gases, además se utilizara un calentador de agitación magnética a 150 RPM y a temperatura ambiente de 22.9 °C.

Se introducen en el bioreactor 50 gr de *Eichhornia Crassipes* diluidos en agua. La muestra se hará reaccionar con 100 gr Hidróxido de sodio al 1% (p / v) durante 6 horas.



Imagen 7. Toma de Hidróxido de sodio



Imagen 8. Hidrolizado alcalino

Durante el proceso de hidrolizado alcalino se tomaron datos experimentales correspondientes a la temperatura del proceso y de PH los cuales se registraron en la siguiente tabla:

MUESTRA	HORA	TEMPERATURA	pH
1	16:00 pm	51,2°C	7.203
2	17:00 pm	39,5°C	9,564
3	18:00 pm	34,5°C	11,104
4	19:00 pm	30.6°C	12,007
5	20:00 pm	28,0°C	12.607
6	21:00 pm	26,4°C	12,943
7	22:00 pm	23,7°C	13,105

Tabla 1. Toma de datos en el proceso de hidrolizado alcalino.

Al finalizar el hidrolizado alcalino la muestra obtiene un pH de 13,105 siendo este un pH básico, luego de esto se lava el mosto resultante de la hidrolisis con agua de grifo para bajar el pH hasta alcanzar el pH neutro del agua. Para esto la muestra es colocada dentro de un filtro y puesto al flujo constante de agua durante 40 minutos como se muestran en las imágenes 9,10 y 11

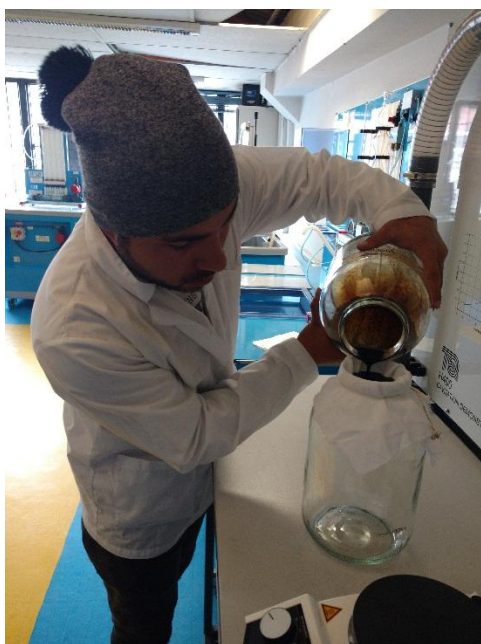


Imagen 9. Filtrado del mosto



Imagen 10. Lavado del mosto

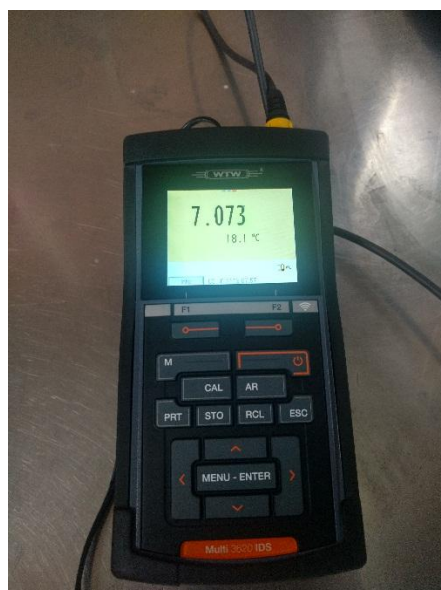


Imagen 11. Toma de pH del mosto luego del lavado



5.3.2 HIDROLISIS ACIDA

Antes de iniciar el proceso de hidrolizado ácido, fue necesario realizar la preparación del ácido sulfúrico ya que este no se encontraba al 3% (V/V) sino al 94% (V/V), para esto el docente a cargo realizó el procedimiento correspondiente para mezclarlo con agua.

$V \text{ de } H_2SO_4 = 113 \text{ ml}$

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$0,94 \cdot 113 = 0,03 \cdot V_2$$

$$V_2 = (0,94 \cdot 113) / 0,03$$

$$V_2 = 3540,66 \text{ ml}$$

Luego de neutralizar el pH del mosto de *Eichhornia Crassipes* con agua de grifo, se agregó Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) al 3% (V/V) preparado previamente en una relación $\frac{1}{4}$ respecto a la cantidad de mosto de *Eichhornia Crassipes* a utilizar. Así se agregaron al bioreactor 40 gr de mosto hidrolizado de *Eichhornia Crassipes* y 10 gr de Ácido sulfúrico a temperatura ambiente y 250 RPM de agitación durante un tiempo de 6 horas.



Imagen 12. Hidrolizado ácido de la *Eichhornia Crassipes*

Durante el proceso de hidrolizado ácido se tomaron mediciones de pH cada media hora hasta que la muestra alcanzo un pH ácido de 3.41 los datos experimentales se registraron en la siguiente tabla:

MUESTRA	HORA	Cantidad de Ácido	pH
0	16:20 pm	0 mg	7,132
1	16:30 pm	10 mg	4,16
2	17:00 pm	10 mg	4,16
3	17:30 pm	10 mg	4,11
4	18:00 pm	10 mg	4,11
5	18:30 pm	10 mg	4,11
6	19:00 pm	10 mg	4,11
7	19:30 pm	10,5 mg	4,11
8	20:00 pm	10,5 mg	3,79
9	20:30 pm	11 mg	3,63
10	21:00 pm	11 mg	3.42
11	21:30 pm	11 mg	3.41

Tabla 2. Toma de datos en el proceso de hidrolizado ácido.

Los datos registrados en la tabla evidencian que fue necesario agregar 1 mg más de ácido sulfúrico durante el procedimiento para alcanzar un pH ácido de 3,41 el cual se mantuvo hasta la toma de pH del día siguiente transcurridas 12 horas.

Antes de realizar el proceso de fermentación se lavó la muestra nuevamente con agua de grifo hasta alcanzar el pH neutro del agua como se puede evidenciar en las imágenes 13 y 14.



Imagen13. Lavado del mosto hidrolizado

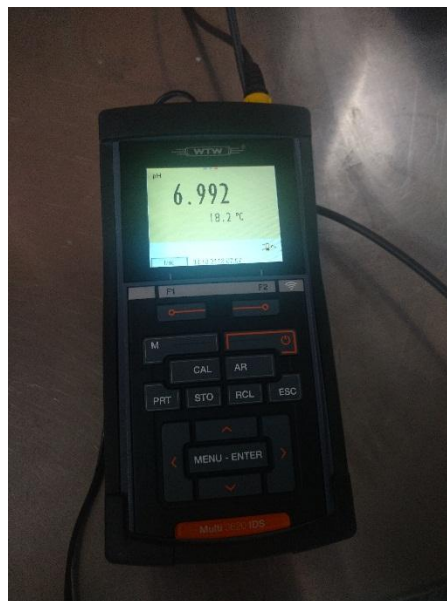


Imagen 14. Toma de pH del mosto

5.4 FERMENTACION

Se implementó el proceso de fermentación según el modelamiento elaborado por (Cuchimaque , 2018), utilizando un bioreactor de vidrio con una capacidad de 5 L, con una tapa para el desprendimiento de gases, y toma de muestras de pH, siendo este un sistema presurizado el cual garantiza una temperatura constante durante el proceso. Se muestra a continuación el sistema de fermentación y producción de bioetanol.



Imagen 15. Sistema piloto de fermentación en batch para la producción de bioetanol modelado por (Cuchimaque , 2018).

40 gr del hidrolizado se mezclaron con 2 L de agua y se agregaron al biorreactor # 1, por otra parte al bioreactor # 2 se le agregaron 7gr del agente fermentador (*Saccharomyces Cerevisiae*) diluidos en 20 ml de agua como se muestra en las imágenes 16 y 17.

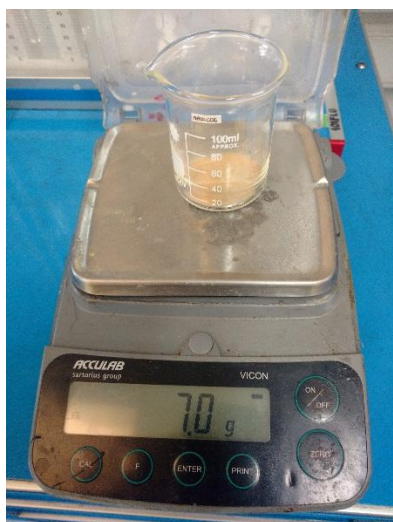


Imagen 16. Peso del inculo fermentador

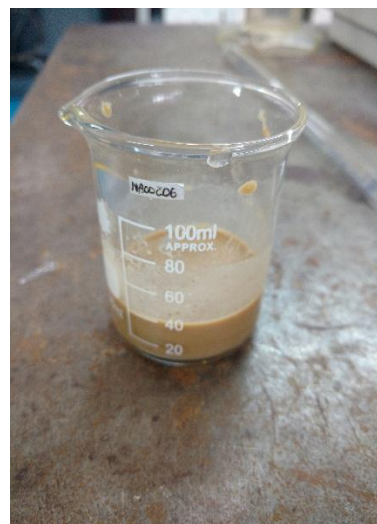


Imagen 17. Disolución del inculo

Se inicia el procedimiento y así se empieza a transportar el hidrolizado contenido en el bioreactor # 1 hacia el bioreactor # 2 el cual contiene el inóculo fermentador, como se muestra en la Imagen18.

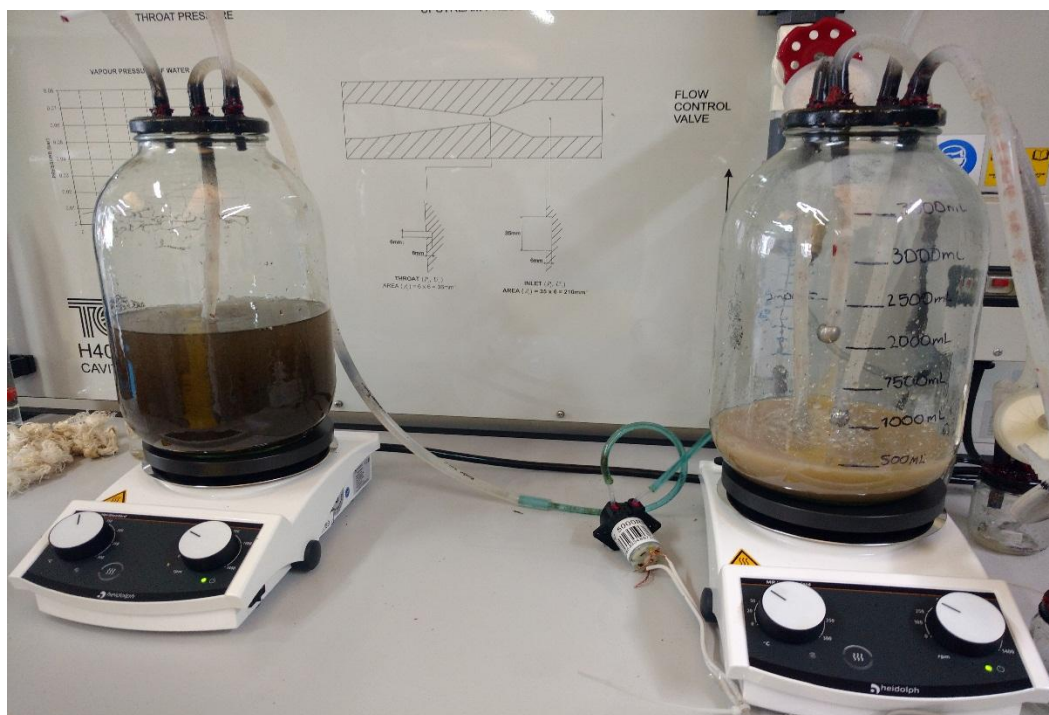


Imagen 18. Inicio del proceso de fermentación del hidrolizado de *Eichhornia Crassipes* con el inóculo fermentador *Saccharomyces Cerevisiae*.

Transcurridas 6 horas 1500 ml del hidrolizado son transferidos al bioreactor # 2 culminando así el proceso de transferencia.

Durante el proceso de fermentación se tomaron muestras de glucosa y alcohol a las muestras y se registraron en la siguiente tabla:

MUESTRA	VOLUMEN (mL)	GLUCOSA (mg / dL)	ALCOHOL %	TIEMPO (horas)
0	2000	125	0	0
1	1500	36,2	1	6
2	1400	E-2	1	12
3	1300	E-2	1	24



6. ANALISIS Y RESULTADOS

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos, se toma como referencia el modelo matemático planteado por (Carreño Sayago, León Agaton, & Carrillo, 2017), y los parámetros iniciales registrado en la siguiente tabla:

	Representación	Unidades
Horas de Tratamiento	H	Horas
Hidrolizado de Eichhornia crassipes (Inicial)	So	mg/L
Hidrolizado de Eichhornia crassipes (Final)	S	mg/L
Saccharomyces cerevisiae (Inicial)	Xo	mg/L
Saccharomyces cerevisiae (Final)	X	mg/L

Tabla 4. Parámetros iniciales para el cálculo de producción de bioetanol en base al consumo de sustrato generado por los microorganismos presentes en el inóculo fermentador. Fuente (Carreño Sayago, León Agaton, & Carrillo, 2017)

Modelo matemático:

$$t = \frac{Um}{y} \left\{ \left(\frac{Ks}{Xo + YSo} + \frac{1}{y} \right) \ln(Xo + YSo - YS) - \left(\frac{Ks}{Xo + ySo} \right) \ln \frac{SXo}{So} - \frac{1}{y} \ln Xo \right\}$$

Imagen 19. Modelo matemático del tiempo óptimo y combinación de sustrato vs la cantidad de microorganismos a utilizar en el bioreactor. Fuente (Rittmann & McCarty, 2001)



6.1 MODELAMIENTO DE LOS DATOS EN EXCEL

Eichhornia Molida	So	Ms/L	40
Eichhornia Molida	S	Ms/L	19
saccharomyces cerevisiae	Xo	Mx/L	7
saccharomyces cerevisiae	X	Mx/L	19,6
Tasa de crecimiento	U	1/T	0,60
Max tasa de Crec	Um	1/T	5,88
Constante mitad	K	Ms/L	20
Maxima tasa de utilización de susutrato	q	Ms/Mx*T	9,8
Rendimiento Real de síntesis de celulas	Y	Ms/Mx*T	0,6
Tiempo	t	dia	1
Maxima tasa de utilización de susutrato	q	Ms/Mx*T	9,80
Tiempo simulado	t	dia	1,0
Tiempo simulado			0,291897

7		
t	S	a
0,000000	40	7
0,059116	37	8,8
0,108585	34	10,6
0,164971	30	13
0,202498	27	14,8
0,248506	23	17,2
0,291897	19	19,6
0,334708	15	22
0,367951	12	23,8
0,391557	10	25
0,404088	9	25,6
0,417307	8	26,2
0,431439	7	26,8
0,446811	6	27,4
0,463923	5	28
0,483615	4	28,6
0,507452	3	29,2
0,538943	2	29,8
0,589277	1	30,4
0,745016	0,1	30,94

Tabla 5. Modelamiento del consumo de glucosa vs producción de alcohol en función al tiempo de cultivo de microorganismos.

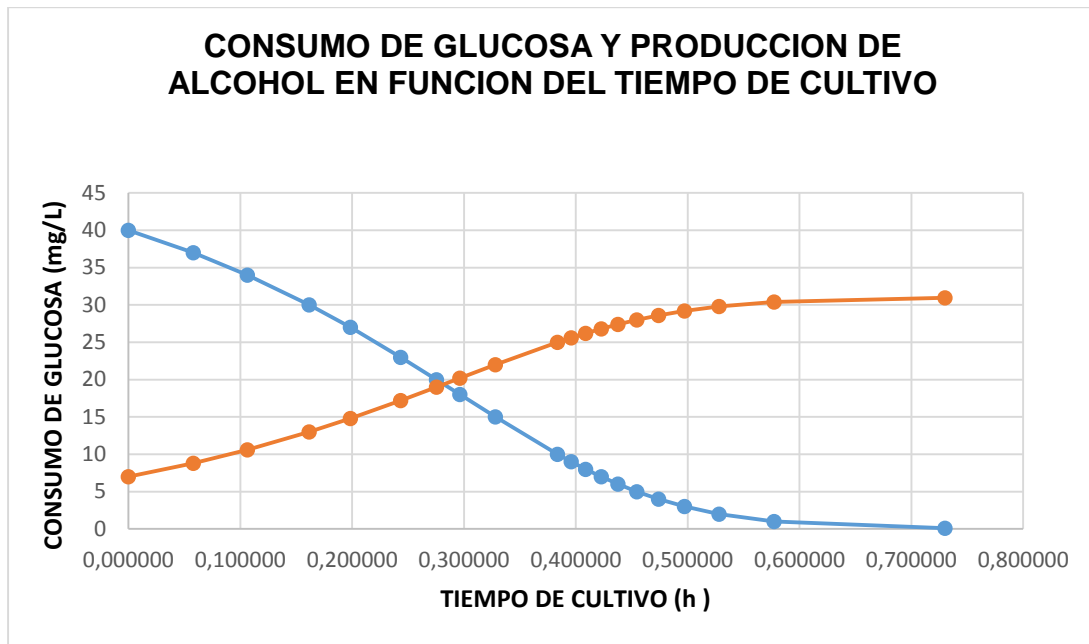


Grafico 1. Representación gráfica del modelamiento matemático.

7. CONCLUSIONES

La biomasa hidrolizada de la *Eichhornia Crassipes* se muestra como un material óptimo para la generación combustibles renovables y fuente de energías sostenibles debido a su producción indiscriminada de carácter invasivo en algunos ecosistemas acuáticos y a la viabilidad que presenta para la elaboración de etanol mediante la fermentación de azúcares

Se puede observar en el grafico 1 que se realizó un consumo total del sustrato hidrolizado, generando así un incremento de los microorganismos de 6 veces respecto a su inicio. Las cantidades utilizadas de sustrato e inóculo fermentador utilizados se muestran viables debido que se genera un consumo de glucosa en un tiempo de 0,29 días o 6,96 horas en el birreactor # 2, siendo este su punto de equilibrio.

En los procesos de hidrolisis y fermentación final se controlaron y se manejaron todas y cada una de las variables inherentes durante su ejecución dando así cumplimiento al objetivo principal planteado, el cual era producir alcohol al final del procedimiento; no obstante, se recomienda realizar nuevos procedimientos



LOS LIBERTADORES
FUNDACIÓN UNIVERSITARIA

experimentales variando las cantidades de sustrato y de inóculo fermentador con el fin de establecer el mejor escenario para la producción de bioetanol.

.



BIBLIOGRAFIA

- [1] SALAET FERNÁNDEZ, S. T. É. P. H. A. N. E., & ROCA JUSMET, J. O. R. D. I. (2010). Agotamiento de los combustibles fósiles y emisiones de CO₂: Algunos posibles escenarios futuros de emisiones. *Revista Galega de Economía*, 19(1).
- [2]. Dominguez, N. A., & Hatuey, F. I. GLOSARIO BILINGÜE DE TÉRMINOS RELACIONADOS CON LA BIOENERGÍA.
- [3]. Cuervo, L., Folch, J. L., & Quiroz, R. E. (2009). Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol. *BioTecnología*, 13(3), 11-25.
- [4]. Vázquez, H. J., & Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 8(4), 249-259.
- [5]. PEÑA, C., & ARANGO, R. (2009). Evaluación de la producción de etanol utilizando cepas recombinantes de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de melaza de caña de azúcar. *Dyna*, 76(159), 153-161.
- [6]. Atehortua, E., & Gartner, C. (2013). Estudios preliminares de la biomasa seca de *eichhornia crassipes* como adsorbente de plomo y cromo en aguas. *Revista colombiana de materiales*, (4), 81-92
- [7]. Vargas, F. E. S., Fajardo, C. A. G., & Andrade, I. C. (2013). *Etanol lignocelulósico: Energético obtenido de procesos fermentativos de la biomasa presente en el Jacinto de Agua*. Editorial Académica Española.
- [8]. Ríos, L. A. (2015). Producción de bioetanol a partir de jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) respecto a otros materiales lignocelulósicos. *Revista Agunkuya*, 2(1), 42-62.



- [9].Saprativ P. Ashutosh Gupta, Debasish , Arun Goyal (2016). Enhanced bioethanol production from water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) by statistical optimization of fermentation process parameters using Taguchi orthogonal array design. *Energy Procedia*, Volume 79, November 2015, Pages 833-837
- [10].Cuchimaque Y, (2018).Diseño y optimización de un sistema piloto de fermentación en batch para la producción de bioetanol. 9(1-9).
- [11]. Posso, F. (2002). Energía y ambiente: pasado, presente y futuro. Parte dos: sistema Energético basado en energías alternativas. *Geoenseñanza*, 7(1-2).
- [12].Fernández, J. (2003). Energía de a biomasa. *Haya Comunicación*.
- [13].Meléndez, A. G. R., Mestizo, F. A. C., Vega, J. C. B., & Betancourt, M. A.M. (2017). Aprovechamiento energético integral de la *Eichhornia crassipes* (Buchón de agua)-Integral Energetic use of *Echornia Crassipes*. *Ingenium Revista de la facultad de ingeniería*, 18(35), 134-152.
- [14]. CEPAL, N. (2003). Energía y desarrollo sustentable en América Latina y el Caribe: guía para la formulación de políticas energéticas.
- [15]. Aburto, J., Martínez, T., & Murrieta, F. (2008). Evaluación técnico-económica de la producción de bioetanol a partir de residuos lignocelulósicos. *Tecnología, Ciencia, Educación*, 23(1).
- [16]. Cardona, E. M., Rios, L. A., & Peña, J. D. (2012). Disponibilidad de variedades de pastos y forrajes como potenciales materiales lignocelulósicos para la producción de bioetanol en Colombia. *Información tecnológica*, 23(6), 87-96.
- [17]. Redacción Bogotá, (28 de Diciembre de 2016). Al menos cinco toneladas de residuos fueron removidos del humedal Juan amarillo. *El espectador*. Recuperado de <https://www.elespectador.com>
- [18]. Cadena Agroindustrial. (2004). Etanol: Análisis de Estudio de Cadena Etanol. Nicaragua.
- [19].Abril, A., & Navarro, E. A. (2012). *Etanol a partir de biomasa lignocelulósica*. Aleta. LIBRO

- [20]. Orjuela, J. A., Huertas, I., Figueroa, J. C., Kalenatic, D., & Kadena, K. (2011). Potencial de producción de bioetanol a partir de caña panelera: dinámica entre contaminación, seguridad alimentaria y uso del suelo. *Ingeniería*, 16(1).
- [21]. MIRANDA, M. G., & LOT, A. (1999). El lirio acuático, ¿ una planta nativa de México?. *Ciencias*, (053).
- [22]. Espejel-Pérez, J. A., & Mireles-López, N. D. R. Extracción de azúcares fermentables a partir de *Eichhornia crassipes*. *Destellos de la Ciencia Iluminando el Conocimiento*, 77.
- [23]. Alomía, A., Peña, J., Bolaños, B., Pedraza, G. 2011. Efecto de la actividad del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. en la calidad de compost elaborado a partir de *Eichhornia crassipes* (Mart.) SolmsLaubach y estiércol bovino. Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad del Valle, Calle 13 No 100-00 Cali-Colombia, Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria (CIPAV. Cali, Colombia
- [24]. Terán Guerrero, J. E., & Solórzano Solís, P. D. (2013). *Obtención de bioetanol del Jacinto de agua (eichhornia crassipe) proveniente del embalse Sixto Durán Ballén mediante proceso enzimático* (Bachelor's thesis, Calcuta: Espam).
- [25]. Fajardo C., Erika E., Sarmiento F., Sandra C. 2008. Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. Pontificia Universidad Javeriana de Colombia. Facultad de ciencias Básicas. Microbiología Industrial. Bogota 2008.
- [26]. Carballo, F. 2000. Microbiología Industrial: microorganismos de interés industrial. Editorial Acribia. España. 20-31p.
- [27]. Reese, E, T. A Microbiological Process Report Enzymatic Hidrolysis of Cellulose. *Applied Microbiology*. 4(1):39-45.



- [28].Loja Sánchez, C. P. (2016). *Optimización de los residuos de cascarilla de arroz mediante pretratamiento por hidrólisis ácida para la obtención de azúcares reductores* (Bachelor's thesis).
- [29].Lehninger, Albert.1981.Las bases moleculares de la estructura y función celular. p: 409-437.
- [30]. Garzón, S, C, Hernández, C. 2009. Estudio comparativo para la producción de etanol entre *Saccharomyces Cerevisiae* silvestre, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 y *Cándida utilis* ATCC 9950. 30-31 p.